

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-208494

(43) 公開日 平成9年(1997)8月12日

| (51) Int.Cl. <sup>8</sup> | 識別記号  | 特許整理番号 | F I     | 技術表示箇所 |
|---------------------------|-------|--------|---------|--------|
| A 6 1 K                   | 47/32 |        | A 6 1 K | C      |
|                           | 9/107 |        |         | F      |
|                           | 9/52  |        |         | A      |

審査請求 未請求 請求項の数15 F D (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願平8-334839  
 (22) 出願日 平成8年(1996)11月29日  
 (31) 優先権主張番号 特願平7-337780  
 (32) 優先日 平7(1995)11月30日  
 (33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000000952  
 鐵紡株式会社  
 東京都墨田区墨田五丁目17番4号  
 (72) 発明者 中田 雄一郎  
 奈良県奈良市帝塚山六丁目7番123号  
 (72) 発明者 堀内 昌人  
 大阪府大阪府都島区友海町1丁目6番8-203号  
 (72) 発明者 都富 玲子  
 兵庫県神戸市灘区灘原伯母野山町3丁目16番6号  
 (72) 発明者 中村 智英  
 大阪府富田林市大字錦織1047番地の24  
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微粒子製剤

(57) 【要約】

【課題】 血中の薬物濃度を持続化させる微粒子製剤を提供する。

【解決手段】 (イ) ポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した共重合体で、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ) 薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【効果】 上記微粒子製剤を血管内に投与すると、微粒子の血中滞留性が向上し、しかも該微粒子からの薬物の放出が徐放化された結果、血漿中の薬物濃度が持続化された。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 (イ) ポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した共重合体で、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項2】 (イ) 重量平均分子量が6000~15000のポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した重量平均分子量が25000~125000の共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項3】 (イ) 重量平均分子量が約6000のポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した重量平均分子量が25000~125000の共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項4】 生体内分解性高分子が、 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸、 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸の環状二量体およびヒドロキシジカルボン酸から選択される1種または2種以上を重合して得られる重合体およびその混合物である請求項1~3のいずれかに記載の微粒子製剤。

【請求項5】  $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸が、乳酸、グリコール酸または2-ヒドロキシ酸である請求項4に記載の微粒子製剤。

【請求項6】  $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸の環状二量体が、ラクタドまたはグリコシドである請求項4に記載の微粒子製剤。

【請求項7】 ヒドロキシジカルボン酸が、リンゴ酸である請求項4に記載の微粒子製剤。

【請求項8】 (イ) ポリエチレングリコールの両末端に、ポリ乳酸が結合した重量平均分子量が25000~125000の共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項9】 (イ) 重量平均分子量が6000~15000のポリエチレングリコールの両末端に、ポリ乳酸が結合した重量平均分子量が25000~125000の共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項10】 (イ) 重量平均分子量が約6000のポリエチレングリコールの両末端に、ポリ乳酸が結合した重量平均分子量が25000~125000の共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤。

【請求項11】 微粒子製剤の平均粒子径が10~5000nmである請求項1~10のいずれかに記載の微

子製剤。

【請求項12】 微粒子製剤の平均粒子径が50~1000nmである請求項1~10のいずれかに記載の微粒子製剤。

【請求項13】 薬物が脂溶性薬物である請求項1~12のいずれかに記載の微粒子製剤。

【請求項14】 脂溶性薬物のlogPが0~4である請求項13に記載の微粒子製剤。

【請求項15】 剤形が注射剤である請求項1~14のいずれかに記載の微粒子製剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、微粒子製剤に関する。さらに詳しくは、(イ) ポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ)薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤に関する。

【0002】

【従来の技術】微粒子(例えば、マイクロカプセル、ナノパーティクル等)を薬物キャリアーとして使い、その中に薬物を封入させ、それを利用した製剤が種々検討されている。例えば、薬物封入の微粒子製剤(マイクロカプセル)を注射剤として皮下あるいは筋肉内に投与して、薬効を長期に渡って持続化させる製剤が開発され、臨床上用いられている。また、微粒子製剤の投与ルートとしては、上記のような注射剤(皮下、筋肉内および静脈内投与)だけでなく、ナノパーティクルのような微粒子製剤を経口投与して、薬物を吸収させる試みも種々行われている。

【0003】血管内に微粒子を直接投与する製剤としては、例えば、比較的大きな粒子を血管内に投与して疾病付近の微細血管を閉塞させ、その部位で、薬物(例えば、抗がん剤)が放出されるように工夫された製剤が知られているが、血管を閉塞させないような大きさの微粒子を体循環血中を循環させると、微粒子が肝臓や脾臓等の細網内皮系(以下、RESと略す)に取り込まれ、血中より急速に消失することが知られている。

【0004】上記のことから、微粒子のRESへの取り込みを回避し血中に微粒子を滞留させ、該微粒子から薬物を徐々に放出させ、薬効を持続化させるために、微粒子製剤、特にその表面に製剤的な工夫を行った検討が種々行われている。

【0005】例えば、ポリスチレンを基質として調製した微粒子の表面上にポリサマール系(ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体)の界面活性剤をコーティングする方法(Journal of Pharmaceutical Science, 72巻、1086~1089頁、1983年)やポリメタ

に同様にポリクサマー系の界面活性剤をコーティングする方法 (International Journal of Pharmaceuticals, 61巻、85-100頁、1990年) 等が報告されている。また、ポリ乳酸のような生体内分解性高分子を基剤として調製した微粒子の表面上に熱処理した血清をコーティングする方法 (Biomaterials, 13巻、1093-1102頁、1992年) 等も報告されている。しかしながら、これらの方法では、微粒子のコーティングに手間がかかる上、コーティング量によって生体内での挙動が変化する等、再現性が悪いという問題点がある。

【0006】一方、微粒子の基剤となる高分子を化学的に修飾してRESへの取り込みを回避する方法も知られている。例えば、公特許公報平5-17245号には、ポリエチレングリコール (以下、PEGともいう) の両末端にポリ乳酸 (以下、PLAともいう) を結合させた共重合体を含むポリマーの製法が開示され、その実施例12bには、分子量6000を有するPEGとポリ(D, L-ラクチド) からなるブロック共重合体を用いて調製した埋込み剤が連続的に少なくとも250日間ペプチドを放出したことが開示されている。さらに、公特許公報平4-210928号には、PEGの両末端にPLAを結合させた共重合体を含むポリマーとポリペプチドからなる埋込みまたは注射可能な製薬組成物が開示されている。

【0007】しかしながら、上記のいずれの公報にも、共重合体の分子量分布を狭くすること、すなわち、共重合体の数平均分子量に対する重量平均分子量を2以下にすることにより、それを用いて調製した微粒子製剤の血中滞留性がより一層向上され、血中の薬物濃度が持続化でることについては、何ら開示も示唆もされていない。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、薬物を封入した微粒子製剤を長期に渡って血中に滞留せしめ、その微粒子から薬物を徐々に放出させることにより、薬物の血中濃度を持続化させる微粒子製剤を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明者らは種々検討した結果、(イ) ポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性高分子が結合した共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体と(ロ) 薬物とからなることを特徴とする微粒子製剤が、本発明の目的に達することを見出して、本発明を完成した。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明の微粒子製剤に用いられる、ポリエチレングリコールの両末端に、生体内分解性

高分子 (以下、BDPという) が結合した共重合体であり、その数平均分子量に対する重量平均分子量が2以下である共重合体とは、BDPとPEGとがBDP-PEG-BDP型にブロック重合した共重合体 (以下、このような共重合体を、BDP-PEG-BDPという) であり、かつ、サイズ排除クロマトグラフィー (以下、SECという) によって測定された主ピークより求まる数平均分子量 (以下、Mnという) に対する重量平均分子量 (以下、Mwともいう) の比、すなわち、 $Mw/Mn$  比が2以下の分子量分布が狭い共重合体 (以下、このような共重合体を、 $Mw/Mn$  比2以下のBDP-PEG-BDPという) である。

【0011】上記BDP-PEG-BDPの $Mn/Mw$ 比は、SEC [カラム: GMH11 (内径7.8mm×長さ30cm、東ソー社製)、溶離液: クロロホルム、カラム温度: 35℃、流量: 1.0ml/分、検出方法: 屈折率測定、検量線: 標準ポリスチレンまたは標準ポリエチレングリコールを用いて作成] により $Mn$ および $Mw$ を測定し、それより算出することができる。なお、理想的なBDP-PEG-BDPとしては、数平均分子量と重量平均分子量が一致した高分子で、その時の $Mw/Mn$ 比は1となる。

【0012】本発明に用いる、 $Mw/Mn$ 比2以下のBDP-PEG-BDPは、以下のようにして製造することができる。

【0013】まず最初に、PEGを、常法によりエチレンオキシドを重合して合成するか、市販品を手入手して得る。PEGの重量平均分子量は特に限定されるものではないが、6000~20000が好ましく、より好ましくは6000~15000であり、さらに好ましくは約6000である。このようなPEGとして、第十二改正日本薬局方 (第一法規出版社発行、1991年) の1066頁に記載のマクロゴール6000が好適に使用される。PEGを合成する場合、例えば、エチレンオキシドの開環重合法により合成する場合には、合成したPEGの分子量分布が狭いことが好ましい。

【0014】次に、上記のPEGと後述するBDP原料 (例えば、乳酸、グリコール酸等の単量体またはラクチド、グリコシド等の環状二量体) の重合を、後述する適当な触媒を用いて、例えば、溶融重合法によって行った後、生成したBDP-PEG-BDPを分別沈澱法で精製する。すなわち、BDPとPEGとの双方の高分子が溶解する有機溶媒 (以下、このような溶媒を良溶媒という) にBDP-PEG-BDPを溶解させ、この溶液を攪拌しながら、その中にBDPまたはPEGのいずれか一方は溶解するが他方は溶解しない有機溶媒 (以下、このような溶媒を貧溶媒という) を滴下し、生成した沈澱物を系外に取り出す操作を繰り返す。その分画を取り出す方法により、分子量分布の狭い共重合体、すなわち、 $Mw/Mn$ 比2以下のBDP-PEG-BDPを製造す

ることができる。

【0015】貧溶媒を滴下し沈澱が生成した後の白濁物の温度を変化させて、一度沈澱物を溶解させた後に再び元の温度にゆっくりと戻して沈澱を生成させることにより、分別精度を上げることができる。

【0016】前記溶融重合は、乾燥空気あるいは乾燥窒素気流中、撹拌翼を備えた重合槽中に、原料であるPEGとBDP原料を投入し、BDP原料の融点以上に加熱して混合物を後述する触媒とともに撹拌することにより実施される。また、例えば、ペント付二軸混練押し出し機またはそれに類似する撹拌および送り機能を有する装置を用いて、BDP原料および触媒を溶融状態で撹拌、混合、脱気しつつ連続的にBDP-PEG-BDPを取り出すことにより溶融重合を実施することもできる。

【0017】上記PEGとBDP原料の比率は、特に限定されるものではないが、1重量部のPEGに対してBDP原料2〜20重量部が好ましい。

【0018】BDP原料としては、例えば、 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸（例えば、乳酸、グリコール酸、2-ヒドロキシ酪酸、2-ヒドロキシ辛酸、2-ヒドロキシカプロン酸、2-ヒドロキシカプリン酸等）、 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸の環状二量体（例えば、ラクチド、グリコシド等）およびヒドロキシカルボン酸（例えば、リンゴ酸等）から選択される1種または2種以上が使用される。上記 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸の中では、乳酸、グリコール酸、2-ヒドロキシ酪酸が好ましい。 $\alpha$ -ヒドロキシ脂肪酸の環状二量体の中では、ラクチド、グリコシドが好ましい。ヒドロキシカルボン酸の中では、リンゴ酸が好ましい。BDP原料の2種以上を使用する場合には、乳酸（またはラクチド）とグリコール酸（またはグリコシド）の組み合わせが好ましく、乳酸とグリコール酸の組成比率は、100:0〜60:40が好ましい。なお、上記のうち、分子内に光学活性を有するものは、D-体、L-体、D、L-体のいずれかでもよい。

【0019】BDP-PEG-BDPとしては、PEGの両末端に乳酸またはラクチドを重合して得られるポリ乳酸-PEG-ポリ乳酸（以下、このような共重合体をPLA-PEG-PLAという）が特に好ましい。

【0020】前記分別沈澱法に使用する良溶媒としては、例えば、テトラヒドロフランやハロゲン系有機溶媒（ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、トリクロロエタン、トリクロロベンゼン）またはこれらの混合溶媒を例示することができる。

【0021】良溶媒の使用量は、原料の仕込み量や共重合組成により異なるが、通常BDP-PEG-BDPの濃度として1〜50重量%になるような量、好ましくは1〜25重量%になるような量である。

【0022】前記分別沈澱法に使用する貧溶媒としては、アルコール系の有機溶媒が好ましい。このアルコール系貧溶媒は、アルコール単独の有機溶媒またはアルコ

ールを主成分とした混合溶媒のいずれかで、アルコールとしてはメタノールやエタノール等の一級アルコール、イソプロパノール等の二級アルコール、トールエン等の三級アルコールやエチレンジグリコールやトリエチレンジグリコール等のジオールが例示される。アルコール系の混合溶媒としては、上記アルコールとハロゲン系の有機溶媒、アセトン等のケトン類、ヘキサン等の低級脂肪族有機溶媒またはベンゼンやトルエン等の芳香族有機溶媒との混合溶媒が用いられる。

【0023】PEGとBDP原料との重合に用いる触媒は、通常のポリエステル重合に用いられる触媒であればいずれでもよく、例えば、塩化スズ等のハロゲン化スズ、2-エチルヘキサン酸スズ等の有機酸スズ、ブチルリチウムやカリウムトールエン等の有機アルカリ金属化合物、金属ポルフィリン錯体またはジエチルアルミニウムメトキシド等の金属アルコキシド等を例示することができる。

【0024】上記触媒の使用量は、BDP原料の仕込み重量に対して0.0001〜1重量%が好ましく、より好ましくは0.001〜0.1重量%である。

【0025】分別沈澱法において、生成した沈澱物を系外に取り出す操作としては、例えば、遠心分離法、自然放置により別れた上澄み（または下澄み）の分離、濾過等の方法が用いられる。また、本発明の分別沈澱法の別の効果は、BDP-PEG-BDPの末端に配位している触媒をこの操作で除去できることにある。

【0026】さらに、分別沈澱法により、分子量3000以下のBDP-PEG-BDPまたはBDPを大幅に除去することも可能である。

【0027】なお、上記のようにして調製したMw/Mn比2以下のBDP-PEG-BDPの重量平均分子量は特に限定されるものではないが、例えば、PLA-PEG-PLAの場合は20000〜150000が好ましく、より好ましくは25000〜125000である。

【0028】本発明の微粒子製剤は、「最新マイクロアセル化技術」（総合技術センター（株））あるいは「粒子設計と製剤技術」（（株）薬業時報社）等に記載の公知のO/W型またはW/O/W型液中乾燥法あるいはそれに準じた方法により製造することができる。

【0029】すなわち、薬物が水より有機溶媒に溶け易い場合、すなわち脂溶性薬物の場合には、まず上述のようにして調製したMw/Mn比2以下のBDP-PEG-BDPと薬物を有機溶媒に溶解させ、要すれば分散剤を溶解させて有機溶媒溶液を調製する（以下、このような溶液を油相という）。別に、分散剤等を水に溶解させた液を調製する（以下、このような溶液を水相という）。次いで、上記水相と油相を混合した後、ホモジナイザー等で高速撹拌するか、もしくは水相をホモジナイザー等で高速撹拌しながら、この中に油相を滴下して乳

化させ、さらに必要に応じて超音波処理等により水相中の油相の液滴径を微粒子化した後、液中乾燥により油相を固化させて微粒子を調整することができる。このようにして調整した薬物を含有する微粒子をそのまま製剤として使用することもできるが、微粒子内に封入されていない薬物を除くために、水相をゲルカラムによりゲルろ過し、微粒子画分を分取した後、常法により乾燥して薬物を含有した微粒子製剤を調整することができる。

【0030】上記有機溶媒としては、比較的沸点が低くて、水と混和せず、BDP-PEG-BDPを溶解するものであればよく、例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、クロロエタン、トリクロロエタン、四塩化炭素、ヘキサフルオロイソプロパノール、酢酸エチル、トルエン、テトラヒドロフラン等を挙げることができ、1種のみを単独で使用するものと、2種以上を混合して使用することができる。

【0031】上記有機溶媒溶液におけるBDP-PEG-BDPの濃度は、使用するBDP-PEG-BDPの種類に応じて適宜選択し得るが、通常0.1〜50重量%、好ましくは0.5〜20重量%程度である。

【0032】水相量に対する油相量は、乳化できる量であれば特に限定されるものではないが、通常水相量に対して0.1〜20重量%程度である。

【0033】上記分散剤としては、例えばポリビニルアルコール（以下、PVAという）、レシチン、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、高級脂肪酸ソルビタンエステル、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体、ラウリル硫酸ナトリウム、モノラウリン酸ポリエチレングリコール、モノステアリン酸ポリエチレングリコール、モノアライン酸ポリエチレングリコール、ジステアリン酸ポリエチレングリコール、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレン硬化ヒマシ油、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン等を例示することができる。

【0034】上記分散剤の濃度は、水相重量または油相重量に対して0.01〜10重量%が好ましく、より好ましくは0.1〜2重量%である。

【0035】また、油相および水相には、必要に応じてその他の添加剤、例えば等張化剤（例えば塩化ナトリウム、塩化カルウム、ソルビトール、ブドウ糖）、湿潤剤（例えばグリセリン、プロピレングリコール）、防腐剤（例えば安息香酸、安息香酸エステル、塩化ベンザルコニウム、ベンジルアルコール）、pH調整剤（例えば塩酸、酢酸、クエン酸、リン酸、水酸化ナトリウム、及びそれらの塩）または増粘剤（例えばエチレンジアミン四酢酸ナトリウム、クエン酸）等を添加することができる。

【0036】これら添加剤の使用量は特に限定されるものではないが、好ましくは水相重量または油相重量に対して0.01〜20重量%である。

【0037】一方、薬物が有機溶媒より水に溶け易い場合、すなわち水溶性薬物の場合には、薬物と必要に応じて添加剤を水に溶解または分散させた液を調整する（以下、このような液を内水相という）。別に、Mw/Mn比2以上のBDP-PEG-BDPを有機溶媒に溶解させた有機溶媒溶液（油相）を調整する。上記内水相と油相を混合した後、ホモジナイザー等で高速攪拌するか、もしくは油相をホモジナイザー等で高速攪拌しながら、この中に内水相を滴下して乳化させて、W/O型のエマルジョンを調整する。さらに、このW/O型のエマルジョンを、高速攪拌した、分散剤等を含有した水（以下、このような液を外水相という）に滴下し乳化させて（W/O）/W型のエマルジョンを調整した後、上述と同様に必要に応じて超音波処理により油相の液滴径を微粒子化し、液中乾燥により油相を固化させて微粒子を調整することができる。微粒子内に封入されていない薬物を除くために、上記と同様に水相をゲルカラムによりゲルろ過し、微粒子画分を分取した後、常法により乾燥して、薬物を含有した微粒子製剤を調整することができる。

【0038】上記有機溶媒の種類および該有機溶媒溶液におけるBDP-PEG-BDPの濃度は、上記の脂溶性薬物の場合と同様である。

【0039】油相量に対する内水相量は、乳化できる量であれば特に限定されるものではないが、通常水相量に対して0.5〜40重量%程度である。また、外水相量に対するW/Oエマルジョン量は、乳化できる量であれば特に限定されるものではないが、通常外水相量に対して0.1〜20重量%程度である。

【0040】上記分散剤および/または添加剤の種類および使用量は、上記の脂溶性薬物の場合と同様である。

【0041】微粒子製剤の粒子径の調整は、水相（または外水相）や油相に添加する分散剤の種類やホモジナイザーの攪拌速度を調整する等により容易に制御することができる。微粒子製剤の平均粒子径は、好ましくは10〜5000nm、より好ましくは50〜1000nmである。

【0042】本発明の微粒子製剤に含有させる薬物としては、血中の薬物濃度を持続化させることにより治療効果を上げることができる薬物であれば、特に限定されるものではなく、それら薬物としては、制がん剤（例えば、アルトレタミン、プレオマイシン、マイトマシチン、塩酸ドキソソルビン、ヒシパニール、クレスチン、レンチタン、シクロホスファミド、チオテパ、テガフル、硫酸ビンブラスチン、塩酸ビンブラスチン）、ステロイド系ホルモン剤（例えば、プロゲステロン、デキサメタゾン、オキシメトロン、酢酸コルチゾン、ベタメタゾン、エナント酸テストステロン、エストリオール、オキシセンドロン）、肝臓疾患薬（例えば、チオクト酸）、痛風治療薬（例えば、コルヒチン、スルフィンピラゾン、ベンズプロマロン）、糖尿病薬（例えば、クロルプロパ

ミド、トラザミド)、循環器用薬(例えば、ジアゾキシド、塩酸ニカルジピン、ニトログリセリン、硝酸イソソルビド、バコグレル、ニフェジピン、シナリジン)、高脂血症薬(例えば、クロフィブラート、ガンマ-オリザノール)、気管支拡張薬(例えば、テオフィリン、塩酸メキシフェナミン、塩酸ツロブテロール)、抗アレルギー薬(例えば、エメダスチン、トラナラスト、テルフェナジン)、消化器官用薬(例えば、塩酸オンダンセトロン、塩酸グラニセトロン)、抗精神薬(例えば、ジアゼパム、フルトプラゼパム)、抗生物質(例えば、セファゾリン、セフトキシム、アンピシリン、塩酸テトラサイクリン、エリスロマイシン、リファンピシン)、化学療法剤(例えば、オフロキサシン、ノルフロキサシン、フルコナゾール、硝酸ミコナゾール、アシクロビル)、抗酸化剤(例えば、バイカレイン)、ペプチド系薬(例えば、インシュリン、カルシトニン、オキシトシン、バソプアシン、ソマトロピン)、蛋白質系薬(例えば、インターフェロン、SOD)等々を挙げることができる。それらの薬物の中でも、脂溶性の薬物、具体的にはlog P(実施例参照)が0~4の薬物が微粒子製剤中の封入率が高く、ひいては治療係数が高いという点から好ましい。

【0043】上記薬物の使用量は、薬物の種類、所望の治療効果および効果の持続時間等によって異なり、個々の微粒子製剤の用途に応じて適宜選択することができる。

【0044】本発明の微粒子製剤の剤形は、特に限定されるものではないが、微粒子を血中に長時間滞留させることにより薬物の血中濃度を持続化させようという観点から、注射剤が特に好ましい。

【0045】本発明の微粒子製剤の投与量は、薬物の種類や含量、剤形、所望とする薬物の持続時間、投与目的等によって異なるが、対象とする薬物に応じて適宜選択することができる。

【0046】

【発明の効果】本発明の微粒子製剤、すなわち、Mw/Mn比2以下のBDP-PEG-BDP(例えば、PLA-PEG-PLA)と薬物とよりなることを特徴とする微粒子製剤は、Mw/Mn比が2以上のBDP-PEG-BDPと薬物とよりなる微粒子製剤に比べて、微粒子の血中滞留性の向上が認められる。さらに微粒子製剤からの薬物の放出が徐放化された結果、血中の薬物濃度が持続化された(後記試験例1参照)。

【0047】従って、本発明の微粒子製剤は、薬物の予防並びに治療効果を一層上げることができる。

【0048】以下に、試験例を挙げて本発明を詳細に説明する。なお、薬物としては、プロゲステロン、アルトレタミン、ジアゼパムを用いて評価した。

【0049】【試験例】

試験例1(血中滞留性試験)

A. 薬物としてプロゲステロンを用いた場合

(1) 検体

実施例1の微粒子製剤と比較例1の微粒子製剤、および実施例2の微粒子製剤と比較例2の微粒子製剤(いずれもそれぞれプロゲステロンとして1mg/4ml/kg)を、0.5重量%のPVA水溶液で再懸濁し、検体とした。また、対照例1の溶液製剤(プロゲステロンとして1mg/0.5ml/kgを投与)も同様に試験を行った。

(2) 試験方法

20時間絶食させた5~8週齢のウィスター系雄性ラット(体重140~181g)を1群2~5匹として用いた。ラットに検体(プロゲステロンとして1mg/kg)を静脈内投与し、投与後一定時間(10、30分、1、2、4時間、さらに実施例1と比較例1の微粒子製剤については8、12および24時間)経過毎にラットの頸静脈より血液を採取した後、遠心分離(1500rpm、3分間)して血漿を得た。得られた血漿中のプロゲステロン濃度(微粒子製剤から放出されたプロゲステロンおよび微粒子製剤中のプロゲステロン)を高濃度液体クロマトグラフィー(以下、HPLCという)により測定し、血漿中の薬物濃度を算出した。

HPLCの条件:

- ・カラム: Unisil Pack 250A (内径4.6mm×長さ25cm、ジーエルサイエンス社製)
- ・移動相: 水2.5容とメタノール7.5容の混合溶液
- ・カラム温度: 35℃
- ・流速: 1.0ml/分
- ・検出方法: UV254nmに於ける吸光度測定

(3) 試験結果

実施例1および比較例1の微粒子製剤と対照例1の溶液投与後の血漿中濃度の結果を図1に、実施例2および比較例2の微粒子製剤と対照例1の溶液投与後の血漿中濃度の結果を図2に示す。図1および図2から明らかに、PLA-PEG-PLAを分別沈澱法により精製し、Mw/Mn比を2以下にして調製した微粒子製剤を血中に投与した場合には、未精製のMw/Mn比が2以上の共重合体を用いて調製した微粒子製剤、あるいは溶液製剤(対照例1)を投与した場合に比して、血漿中の薬物濃度が持続化されていた。

【0050】B. 薬物としてアルトレタミンを用いた場合

(1) 検体

実施例3の微粒子製剤および比較例3の微粒子製剤(それぞれアルトレタミンとして2mg/4ml/kg)を、0.5重量%のPVA水溶液で再懸濁し、検体とした。また、対照例2の溶液製剤(アルトレタミンとして2mg/4ml/kgを投与)も同様に試験を行った。

(2) 試験方法

20時間絶食させた9~10週齢のウィスター系雄性ラ

ット(体重191~202g)を1群2~4匹として用いた。ラットに検体(アルトレタミンとして2mg/kg)を静脈内投与し、投与後一定時間(10、30分、1、2、4および8時間)経過毎にラットの頸静脈より血液を採取した後、遠心分離(15000rpm、3分間)して血漿を得た。得られた血漿中のアルトレタミン濃度(微粒子製剤から放出されたアルトレタミンおよび微粒子製剤中のアルトレタミン)をHPLCにより測定し、血漿中の薬物濃度を算出した。

HPLCの条件:

・カラム: L-c o l u m n ODS (内径4.6mm×長さ25cm、化学品検査協会製)

・移動相: リン酸水素二ナトリウム1.42gを水1000mlに溶解しリン酸でpH6に調整した溶液42容とアセトニトリル58容の混合溶液

・カラム温度: 30℃

・流速: 1.0ml/分

・検出方法: UV220nmに於ける吸光度測定

(3) 試験結果

結果を図3に示す。図3から明らかなように、薬物がアルトレタミンの場合も、プロゲステロンの場合と同様に、PLA-PEG-PLAを分別沈澱法により精製し、Mw/Mn比を2以下にして調製した微粒子製剤を血中に投与した場合には、未精製のMw/Mn比が2以上の共重合体を用いて調製した微粒子製剤、あるいは溶液製剤(対照例2)を投与した場合に比して、血漿中の薬物濃度が特異化されている。

【0051】C. 薬物としてジアゼパムを用いた場合

(1) 検体

実施例4の微粒子製剤および比較例4の微粒子製剤(それぞれジアゼパムとして1mg/kg)を、0.5重量%のPVA水溶液で再懸濁し、検体とした。

(2) 試験方法

20時間絶食させた10週齢のウィスター系雄性ラット(体重211~235g)を1群2匹として用いた。ラットに検体(ジアゼパムとして1mg/kg)を静脈内投与し、投与後一定時間(10、30分、1、2、4、8、12および24時間)経過毎にラットの頸静脈より血液を採取した後、遠心分離(15000rpm、3分間)して血漿を得た。得られた血漿中のジアゼパム濃度(微粒子製剤から放出されたジアゼパムおよび微粒子製剤中のジアゼパム)をHPLCにより測定し、血漿中の薬物濃度を算出した。

HPLCの条件:

・カラム: Unisil Pack 200A (内径4.6mm×長さ25cm、ジーエルサイエンス社製)

・移動相: リン酸水素二アンモニウム1.32gを水1000mlに溶解しリン酸でpH7に調整した溶液32容、アセトニトリル34容とメタノール34容の混合溶液

・カラム温度: 35℃

・流速: 1.0ml/分

・検出方法: UV254nmに於ける吸光度測定

(3) 試験結果

結果を図4に示す。図4から明らかなように、薬物がジアゼパムの場合も、プロゲステロンおよびアルトレタミンの場合と同様に、PLA-PEG-PLAを分別沈澱法により精製し、Mw/Mn比を2以下にして調製した微粒子製剤を血中に投与した場合には、未精製のMw/Mn比が2以上の共重合体を用いて調製した微粒子製剤を投与した場合に比して、血漿中の薬物濃度が特異化されている。

【0052】

【実施例】以下に、実施例、比較例および対照例を挙げて本発明をさらに具体的に説明する。

【0053】薬物のlogPは、n-オクタノールと水の当量溶媒に薬物を添加した後、強く振盪し、平衡に達した後のn-オクタノール相中の薬物濃度(Ca)と水相中の薬物濃度(Cb)から、下式により算出した。

【0054】

【数1】 $\log P = \log (Ca/Cb)$

微粒子製剤の平均粒子径は、電気泳動光散乱光度計(SLB-800、大塚電子社製)により測定した。

【0055】薬物封入率は下式により求めた。

【0056】

【数2】 $\text{薬物封入率} = (\text{乾燥微粒子中} \times \text{薬物含量} / \text{微粒子調製時の薬物仕込量}) \times 100$

【0057】実施例1

レーラクチド(Boehringer社製)91gと重量平均分子量が6600のポリエチングリコール(マクロゴール6000、和光純薬工業社製)10gをガラス瓶中で混合した後、減圧乾燥した。次に、これらを、窒素気流下で赤熱乾燥した三ツ口フラスコ中に2-エチルヘキサン酸スズ0.05mlとともに添加し、135℃の油浴上で窒素気流下、バドルにより攪拌して重合させ、未精製の、重量平均分子量が6600のPEGの両末端にラクチドを重合させて得られる共重合体(以下、このような共重合体を、PLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAという)を得た。SECにより求めた未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAの重量平均分子量は83000、Mw/Mn比は11.7であった。次に、この未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAを、メタノールを用いた分別沈澱法により精製した。すなわち、まず上記共重合体の10重量%クロロホルム溶液1リットルをフラスコに入れ、恒温槽中で25℃に保ち、この溶液にメタノールを白色の沈澱が析出するまで滴下した。次いで、恒温槽の温度を60℃まで上昇させて沈澱物を溶解させた。さらに、恒温槽の温度を0.2~0.3℃/分の速度で25℃まで下げて、再び沈澱物を析出させた後、攪

13

拌を停止させ、そのまま一晚恒温で放置した。デカンテーションして沈澱物を取り出した後、沈澱物中の有機溶媒を留去することによりMw/Mn比1.6のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA(重量平均分子量119000)を得た。上記のようにして調製されたMw/Mn比1.6のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA200mgとプロゲステロン(logP=3.2)20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、O/W型液中乾燥法により薬物が封入された微粒子を調製した。すなわち、まず上記ジクロロホルム溶液(油相)を、ホモジナイザー(ポリトロン、キネマチカ社製)で高速攪拌した。0.5重量%PVA水溶液(水相)80mlの中に徐々に滴下して乳化させた。次いで、超音波処理により油相の液滴径をさらに微粒子化した後、液中乾燥で油相を固化させて微粒子を調製した。得られた微粒子懸濁液をグルカラム(Bio Rad エコバック10DG)により移動相として3mMリン酸緩衝液を用いてゲルろ過し、微粒子画分を分取後、さらに凍結乾燥させて、実施例1の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は197nm、薬物封入率は49%であった。

#### 【0058】実施例2

レーラクチド(Boehringer社製)70gと重量平均分子量が6600のポリエチレングリコール(マクロゴール6000、和光純薬工業社製)30gを用いる以外は、実施例1と同様の方法により重合させ、未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAを得た。SECにより求めた未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAの重量平均分子量は26000、Mw/Mn比は10.7であった。次に、この未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLAを、実施例1と同様の方法によりメタノールを用いた分別沈澱法により精製し、Mw/Mn比2.0のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA(重量平均分子量29000)を得た。上記のようにして調製されたMw/Mn比2.0のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA200mgとプロゲステロン(logP=3.2)20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、実施例1と同様の操作により、実施例2の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は485nm、薬物封入率は32%であった。

#### 【0059】実施例3

実施例1で得られたMw/Mn比1.6のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA(重量平均分子量119000)200mgとアルトレタミン(logP=2.6)20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、実施例1と同様にO/W型液中乾燥法により、微粒子を調製した後、得られた微粒子懸濁液を0.45μmのフィルター(Ekicrodisc™13, Gelman Sciences社製)でろ過し、実施例3の微

14

粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は182nm、薬物封入率は14%であった。

#### 【0060】実施例4

実施例1で得られたMw/Mn比1.6のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA(重量平均分子量119000)200mgとジアゼパム(logP=2.7)20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、実施例1と同様の操作により、実施例4の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は392nm、薬物封入率は59%であった。

#### 【0061】実施例5

レーラクチド(Boehringer社製)96gと重量平均分子量が6600のポリエチレングリコール(マクロゴール6000、和光純薬工業社製)5gを用いて、実施例1と同様の操作により重合させた後、メタノールを用いた分別沈澱法により精製してMw/Mn比2.0のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA(重量平均分子量147000)を得た。上記のようにして調製されたMw/Mn比2.0のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA200mgとプロゲステロン20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、実施例1と同様の操作を行い、実施例5の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は304nm、薬物封入率は73%であった。

#### 【0062】実施例6

レーラクチド(Boehringer社製)87gと重量平均分子量が19600のポリエチレングリコール(マクロゴール20000、和光純薬工業社製)13gを用いて、実施例1と同様の操作により重合させて、未精製の、重量平均分子量が19600のPEGの両末端にラクチドを重合させて得られる共重合体(以下、このような共重合体を、PLA-重量平均分子量19600のPEG-PLAという)を得た。次に、この未精製のPLA-重量平均分子量19600のPEG-PLAを、メタノールを用いた分別沈澱法により精製してMw/Mn比1.7のPLA-重量平均分子量19600のPEG-PLA(重量平均分子量121000)を得た。上記のようにして調製されたMw/Mn比1.7のPLA-重量平均分子量19600のPEG-PLA200mgとプロゲステロン20mgをジクロロメタン20mlに溶解し、実施例1と同様の操作を行い、実施例6の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は774nm、薬物封入率は67%であった。

#### 【0063】実施例7

有効成分としてジアゾキシド(logP=0.97)を用いる以外は実施例1と同じ操作を行い、実施例7の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は171nm、薬物封入率は71%であった。

#### 【0064】実施例8

有効成分としてバイカレインを用い、油相の溶媒として



ジクロロメタン20mlの代わり、ジクロロメタン18、7mlとアセトン11、3mlの混液を用いる以外は実施例1と同じ操作を行い、実施例8の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は148nm、薬物封入率は10%であった。

#### 【0065】比較例1

実施例1に記載の、未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA (Mw/Mn比11、7、重量平均分子量83000)を用いて微粒子製剤を調製する以外は、実施例1と同じ操作により、比較例1の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は152nm、薬物封入率は64%であった。

#### 【0066】比較例2

実施例2に記載の、未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA (Mw/Mn比10、7、重量平均分子量26000)を用いて微粒子製剤を調製する以外は、実施例2と同じ操作により、比較例2の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は439nm、薬物封入率は59%であった。

#### 【0067】比較例3

比較例1と同様の、未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA (Mw/Mn比11、7、重量平均分子量83000)を用いて微粒子製剤を調製する以外は、実施例3と同じ操作により、比較例3の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は194nm、薬物封入率は13%であった。

#### 【0068】比較例4

比較例1と同様の、未精製のPLA-重量平均分子量6600のPEG-PLA (Mw/Mn比11、7、重量平均分子量83000)を用いて微粒子製剤を調製する以外は、実施例4と同じ操作により、比較例4の微粒子製剤を得た。微粒子製剤の平均粒子径は421nm、薬物封入率は55%であった。

#### 【0069】対照例1

プロゲステロン6mgをエタノール1ml、ポリエチレングリコール400、マクロゴール400、和光純薬工

業社製)1mlおよび水1mlの混液に溶解して、対照例1の溶液製剤を調製した。

#### 【0070】対照例2

アルトレタミン2mgをエタノール0、5ml、ポリエチレングリコール400 (マクロゴール400、和光純薬工業社製)1mlおよび生理食塩水2、5mlの混液に溶解して、対照例2の溶液製剤を調製した。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】 実施例1の微粒子製剤、比較例1の微粒子製剤および対照例1の溶液製剤をラットに静脈内投与した際の、血漿中のプロゲステロン濃度 (平均値) の経時的な推移を示すグラフであり、○印は実施例1の微粒子製剤、△印は比較例1の微粒子製剤、□印は対照例1の溶液製剤を示す。

【図2】 実施例2の微粒子製剤、比較例2の微粒子製剤および対照例1の溶液製剤をラットに静脈内投与した際の、血漿中のプロゲステロン濃度 (平均値) の経時的な推移を示すグラフであり、○印は実施例2の微粒子製剤、△印は比較例2の微粒子製剤、□印は対照例1の溶液製剤を示す。

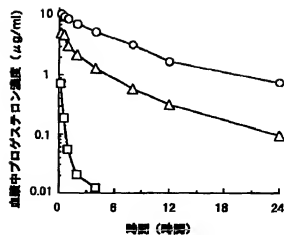
【図3】 実施例3の微粒子製剤、比較例3の微粒子製剤および対照例2の溶液製剤をラットに静脈内投与した際の、血漿中のアルトレタミン濃度 (平均値) の経時的な推移を示すグラフであり、○印は実施例3の微粒子製剤、△印は比較例3の微粒子製剤、□印は対照例2の溶液製剤を示す。

【図4】 実施例4の微粒子製剤および比較例4の微粒子製剤をラットに静脈内投与した際の、血漿中のジゼルハム濃度 (平均値) の経時的な推移を示すグラフであり、○印は実施例4の微粒子製剤、△印は比較例4の微粒子製剤を示す。

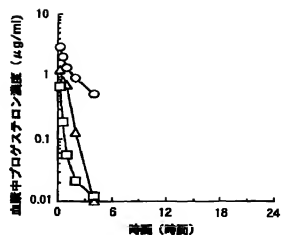
#### 【符号の説明】

- 実施例の微粒子製剤
- △ 比較例の微粒子製剤
- 対照例の溶液製剤

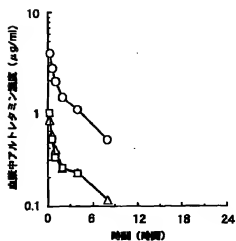
【図1】



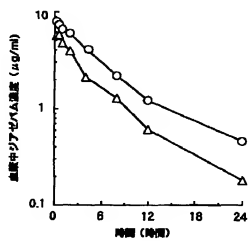
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(72)発明者 桜井 和朗

兵庫県姫路市西新町117番地の7